

10/521811

PCT/JP 03/02878
IB 03/02878
Mod. C.E. - 1-4-7*[Handwritten signature]*

Rec'd PCT/JP 21 JAN 2005

Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2

REC'D 29 SEP 2003

WIPO PCT

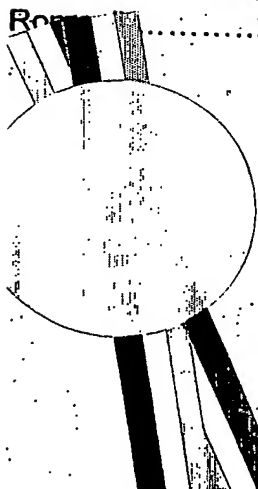
Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: **Invenzione Industriale**

N. MI2002 A 001624

*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

03 SET. 2003



IL DIRIGENTE

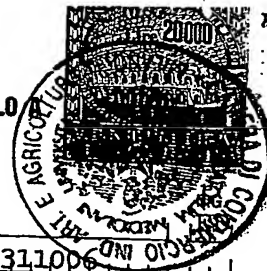
[Handwritten signature]
Dr. P. GALLOPPOBEST AVAILABLE COPY
BEST AVAILABLE COPY

AL MINISTERO DELLE ATTIVITÀ PRODUTTIVE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO



A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione Consiglio Nazionale delle Ricerche
Residenza Milano
2) Denominazione Università dell'Insubria codice 02118311006
Residenza Varese codice 02481820120 ☒ EN

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome Dr.ssa SANTORO Tiziana cod. fiscale _____
denominazione studio di appartenenza MARIETTI, GISLON e TRUPIANO S.r.l.
via Larga n. 16 città Milano cap 20122 (prov) MI

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via // n. // città // cap _____ (prov) _____

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci) _____ gruppo/sottogruppo _____

Uso di specifici geni Myb per la produzione di piante transgeniche tolleranti
gli stress biotici e abiotici".

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO:

SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA _____ N° PROTOCOLLO _____

E. INVENTORI DESIGNATI

1) CORAGGIO, Immacolata cognome nome
2) LOCATELLI, Franca 3) BRACALE, Marcella cognome nome
4) VANNINI, Candida

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R
1) _____	_____	_____	____/____/____	_____
2) _____	_____	_____	____/____/____	_____

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data _____ N° Protocollo _____

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

I titolari partecipano ai diritti sul brevetto nelle seguenti misure

- Consiglio Nazionale delle Ricerche 50%

- Università degli Studi dell'Insubria 50% AI SENSI DELL'ART. 19 R.D. 1127/39

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.	PROV	RIS	n. pag.	n. tav.
Doc. 1) <u>12</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<u>12</u>	<input type="checkbox"/>
Doc. 2) <u>10</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<u>10</u>	<input type="checkbox"/>
Doc. 3) <u>1</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<u>1</u>	<input type="checkbox"/>
Doc. 4) <u>1</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<u>1</u>	<input type="checkbox"/>
Doc. 5) <u>1</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<u>1</u>	<input type="checkbox"/>
Doc. 6) <u>1</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<u>1</u>	<input type="checkbox"/>
Doc. 7) <u>1</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<u>1</u>	<input type="checkbox"/>

riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare) _____

disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare) _____

lettera e modulo, procura e richiamo procedura generale DICH. SOST.

designazione inventore _____

documenti di priorità con traduzione in italiano _____

autorizzazione o atto di cessione _____

nominativo completo del richiedente

centoottantotto/50

8) attestati di versamento, totale Euro _____

COMPILATO IL _____

CONTINUA SI/NO NO

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I)

Dr.ssa SANTORO Tiziana

obbligatorio

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO

SICAMERA DI COMMERCIO IND. ART. E AGR. DI MILANOMILANO

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI2002A 001624

Reg. A.

codice 155L'anno DUEMILADUE

il giorno _____

VENTITREdel mese di LUGLIO

Il(i) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda _____

fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto soprariportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE _____

IL DEPOSITANTE

timbro
dell'Ufficio

L'UFFICIALE ROGANTE

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA

MI2002A 0016

REG. A

DATA DI DEPOSITO

11/07/2002

NUMERO BREVETTO

DATA DI RILASCIO

/ / /

D. TITOLO

Uso di specifici geni Myb per la produzione di piante transgeniche tolleranti
gli stress biotici e abiotici".

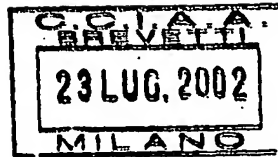
L. RIASSUNTO

La presente invenzione concerne l'uso del gene Y11414 o di suoi omologhi funzionali per la produzione di piante tolleranti gli stress biotici, da sale, da disidratazione e osmotico e l'uso di prodotti che comprendono le sequenze di detti geni, quali cassette di espressione e vettori biologici utili nella preparazione di piante transgeniche.

M. DISEGNO



MI 2002A 001624



Descrizione dell'Invenzione avente per titolo:

"Uso di specifici geni *Myb* per la produzione di piante transgeniche tolleranti gli stress biotici e abiotici"

Titolari: Consiglio Nazionale delle Ricerche, con sede in Milano

Università degli Studi dell'Insubria, con sede in Varese

Inventori: CORAGGIO, Immacolata; LOCATELLI, Franca; BRACALE, Marcella;
VANNINI, Candida;

La presente invenzione concerne l'uso di particolari geni della famiglia *Myb* per la produzione di piante tolleranti alcuni stress biotici e abiotici, in particolare l'uso di certi geni *Myb* della classe R2R3 e delle proteine ad essi associate che sono implicati nella difesa delle piante da varie condizioni ambientali avverse. L'invenzione concerne inoltre l'uso di prodotti che comprendono le sequenze di detti geni, quali cassette di espressione e vettori biologici utili nella preparazione di piante transgeniche.

Le piante sono costantemente soggette all'attacco di una enorme quantità di microorganismi ad esempio funghi, batteri, virus e come pure di organismi patogeni superiori, dai quali si proteggono mettendo in atto meccanismi di difesa disponibili nella pianta stessa. Tali processi di difesa non sempre risultano sufficienti a combattere efficacemente il patogeno con conseguenze deleterie per la pianta affetta.

Oltre agli stress biotici, le piante sono sottoposte ad attacchi ambientali di vario genere, che determinano modificazioni a volte importanti dell'ambiente in cui la pianta cresce. Così ad esempio il freddo, una elevata salinità o disidratazione del terreno, sono causa di stress e danno per la pianta.

Gli stress biotici e abiotici sono fattori fortemente limitanti per la crescita e lo sviluppo delle piante e possono provocare gravi danni alla produttività delle specie di

interesse, alla qualità e al valore nutritivo dei prodotti agricoli e l'ottenimento di piante maggiormente tolleranti è un importante obiettivo nei programmi di ricerca pubblica di numerosi paesi.

Tale ricerca ha portato negli ultimi anni a trovare e catalogare i geni attivati in risposta a stress ambientali, biotici e abiotici, in due grandi classi, in particolare la classe dei geni codificanti per proteine regolatrici coinvolte nella percezione, nella trasduzione e nell'amplificazione del segnale di stress che attivano e modulano l'espressione di geni direttamente coinvolti nell'acquisizione della tolleranza (Zhu, J.K., Hasegawa, P.M. and Bressan, R. 1997, Critical review in Plant Sci. 16:253; Gu, Y.Q., Wildermuth, M.C., Chakravarthy, S., Lho, Y.T., Yang, C., He, X., Han, Y. and Martin, G.B. 2002, Plant Cell, 14, 817) e la classe dei geni che svolgono un ruolo diretto di protezione/riparo di processi cellulari fondamentali, la cui espressione è alla base della risposta biochimica e fisiologica e quindi della tolleranza a stress (Thomashow, M.F. 1999, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 50:571; Schenk, P.M., Kazan, K., Wilson, I., Anderson, J.P., Richmond, T., Somerville, S.C. and Manners, J.M. 2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97, 11655).

Piante transgeniche che sovraesprimono geni di quest'ultima classe hanno messo in evidenza che un singolo gene di questo insieme contribuisce solo in modo molto parziale e marginale all'acquisizione della tolleranza a stress ambientali, mentre piante sovraesprimenti geni che codificano per fattori trascrizionali della prima classe, capaci di controllare e modulare l'espressione contemporanea e coordinata di numerosi geni a valle coinvolti nell'acquisizione della tolleranza, mostrano migliori prestazioni in situazioni induttive rispetto a piante "wild type" non trasformate, perché una pianta trasformata con un singolo fattore trascrizionale si comporta come una pianta trasformata con l'intera batteria di geni da esso regolati (Jaglo-Ottosen, K.R., Gilmour,

S.J., Zarka, D.G., Schbenberger, O. and Thomashow, M.F. 1998, Science, 28:104; Liu, Q., Kasuga, M., Sakuma, Y., Abe H., Miura, S., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 1998, Plant Cell, 10:1391; Schenk, P.M., Kazan, K., Wilson, I., Anderson, J.P., Richmond, T., Somerville, S.C. and Manners, J.M. 2000 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97, 11655).

I presenti inventori hanno recentemente isolato cloni di cDNA di riso (*Oryza sativa*) codificanti per fattori trascrizionali di tipo *Myb* ed hanno dimostrato la funzione di alcuni di essi nella risposta a stress. Negli organismi vegetali la famiglia dei fattori trascrizionali *Myb*-like è particolarmente interessante per il suo coinvolgimento nel controllo e nella regolazione di numerosi processi cellulari vegetali quali ad esempio la proliferazione cellulare e la morfogenesi, il metabolismo cellulare, la risposta a stress.

Com'è noto, le sequenze dei geni *Myb* sono caratterizzate dalla presenza di una regione conservata N-terminale, seguita da una regione variabile per lunghezza e per sequenza. La regione conservata è deputata al riconoscimento e legame a sequenze specifiche nei promotori di geni target e consiste di un blocco di circa 56 amminoacidi caratterizzato da triptofani in posizione fissa (tryptophan domain). In funzione del numero e del tipo di tryptophan domain presenti i geni *Myb* sono denominati di tipo: R1R2R3, R1/R2, R2R3. La regione C-terminale, variabile, è in genere responsabile dell'attività trascrizionali, della localizzazione cellulare, della regolazione post-trascrizionale e dell'interazione con altre proteine. L'omologia di sequenza in questa regione in geni *Myb* di organismi diversi ne indica l'omologia funzionale.

In particolare gli inventori hanno isolato dal riso un particolare cDNA codificante per un fattore *Myb* della classe R2R3, la cui sequenza stata depositata con il numero di accesso N. Y11414 (EMBL). Il gene Y11414 è espresso costitutivamente a bassi livelli in coleottili di riso in condizioni ottimali di temperatura; la sua espressione



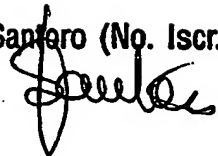
è fortemente indotta da trattamenti a basse temperature 10°C, temperatura subletale per riso. I geni indotti in questa condizione, sono considerati importanti per la protezione dallo stress da freddo più estremi. Sia in sistemi eterologhi (protoplasti di tabacco) sia in sistemi omologhi (calli di riso), Y11414 è in grado di transattivare: 1) il promotore del gene PAL di fagiolo inducibile da freddo; 2) il promotore della desaturasi D9 di patata, enzima inducibile da freddo che catalizza la formazione di doppi legami negli acidi grassi di membrana, una delle principali risposte a basse temperature. Piante di *Arabidopsis thaliana* transgeniche, omozigoti e a inserzione singola, sovraesprimenti costitutivamente il gene Y11414 mostrano una eccezionale tolleranza a trattamenti fino a -10°C, quando confrontate con le piante "wild type", dimostrando la sua reale ed efficace capacità di conferire a piante transgeniche di *Arabidopsis thaliana* tolleranza allo stress da freddo e gelo (Osnato M. et al., Proceedings of the XLV Italian Society of Agricultural Genetics - SIGA Annual Congress Salsomaggiore Terme, Italy - 26/29 September 2001; Pandolfi et al., Plant Physiology 114, p 747. PGR97-079).

È stato in particolare dimostrato che l'espressione del gene Y11414 sebbene sia indotta da stress da freddo, non viene invece indotta da altri stress ambientali, quali anossia, elevata salinità, disidratazione, né indotta da trattamento ormonale con ABA (Pandolfi et al., cfr sopra).

Gli inventori hanno ora sorprendentemente trovato che il gene Y11414 e i suoi omologhi funzionali di altre specie, conferiscono tolleranza a stress biotici ed abiotici (quali elevata salinità, disidratazione, stress osmotico), nonostante non vengano direttamente indotti in natura da questi stress.

Inoltre, si è ora trovato che le piante trasformate con tali geni mostrano espressione costitutiva di diversi geni correlati alla tolleranza ai patogeni.

Così, secondo uno dei suoi aspetti, l'invenzione concerne l'uso del gene Y11414



o dei suoi omologhi funzionali di altre specie per la produzione di piante transgeniche tolleranti gli stress biotici.

Secondo un altro dei suoi aspetti, l'invenzione concerne l'uso del gene Y11414 o dei suoi omologhi funzionali di altre specie per la produzione di piante transgeniche tolleranti lo stress da sale, da disidratazione e lo stress osmotico.

La maggior tolleranza agli stress abiotici sopra descritti risulta particolarmente sorprendente se si considera che, come indicato sopra, il gene Y11414 e i suoi omologhi funzionali non vengono indotti in natura da tali condizioni di stress.

Con l'espressione "geni" si intende secondo la presente invenzione una sequenza polinucleotidica isolata o frammenti di sequenza polinucleotidica isolati (DNA).

Per "sequenza polinucleotidica isolata" si intende che è sostanzialmente priva del materiale biologico con il quale è normalmente associata nei prodotti naturali.

I geni secondo la presente invenzione possono essere isolati da piante disponibili in natura, del tipo monocotiledone o dicotiledone.

Con l'espressione "stress biotici" si intende, secondo la presente invenzione, condizioni ambientali avverse, causate dall'attacco di organismi patogeni quali funghi, batteri, virus ed altri organismi patogeni superiori.

Con l'espressione "piante transgeniche tolleranti gli stress biotici e abiotici" si intende, secondo la presente invenzione, piante che sono state geneticamente modificate e che presentano maggiori capacità di adattamento e di sopravvivenza verso gli stress biotici e abiotici rispetto alle corrispondenti piante "wild type".

Con l'espressione "omologhi funzionali" si intende secondo la presente invenzione i geni e le sequenze polinucleotidiche che esercitano nelle piante una funzione analoga a quella esercitata dal gene Y11414 nella pianta del riso. Preferibilmente, tali omologhi sono sequenze polinucleotidiche che presentano una

omologia di sequenza di almeno il 70% con la regione variabile del gene Y11414, vantaggiosamente di almeno l'80%, ad esempio il 90%.

Secondo un altro dei suoi aspetti l'invenzione ha per oggetto l'uso sequenze polinucleotidiche che presentano una omologia di sequenza polinucleotidica di almeno il 70%, vantaggiosamente di almeno l'80%, ad esempio il 90%, con la regione variabile del gene Y11414 per la produzione di piante transgeniche tolleranti gli stress sopra descritti.

Secondo un altro dei suoi aspetti, l'invenzione concerne l'uso del gene Y11414 o dei suoi omologhi funzionali di altre specie per la prevenzione e/o il trattamento degli stress biotici e dei danni provocati da una elevata salinità, disidratazione e stress osmotico nelle piante.

L'invenzione concerne anche l'uso delle varianti funzionali, delle sequenze complementari e dei prodotti di trascrizione del gene Y11414 o dei suoi omologhi funzionali per la produzione di piante transgeniche tolleranti gli stress biotici e gli stress provocati da elevata salinità, disidratazione e stress osmotico.

Un gene vantaggioso per l'uso secondo l'invenzione è il gene Y11414 stesso.

L'invenzione comprende anche i polipeptidi codificati dal gene Y11414, dai suoi omologhi funzionali di altre specie, dalle sue varianti funzionali o dalle sequenze polinucleotidiche che presentano una omologia di almeno il 70%, vantaggiosamente almeno l'80 o 90%, con la regione variabile del detto gene Y11414, e l'uso di detti polipeptidi secondo l'invenzione.

Gli omologhi funzionali di altre specie del gene Y11414, e vantaggiosamente le sequenze polinucleotidiche che presentano una omologia di almeno il 70%, vantaggiosamente di almeno l'80%, ad esempio il 90%, con la regione variabile del gene Y11414, con l'esclusione del gene Y11414 stesso, costituiscono parte della presente

invenzione.

Costituiscono altresì parte dell'invenzione le cassette di espressione, i vettori biologici, le cellule ospite e le piante transgeniche che comprendono detti omologhi funzionali del gene Y11414, vantaggiosamente che comprendono le sequenze polinucleotidiche presentanti una omologia per almeno il 70% con il gene Y11414, con l'esclusione del gene Y11414 stesso.

Per l'uso secondo l'invenzione, il gene prescelto è inserito all'interno di una pianta "wild type" (o eventualmente già trasformata) attraverso le procedure di tecnologia genetica convenzionali.

A titolo illustrativo, delle piante di interesse agronomico che possono essere trasformate per l'uso secondo l'invenzione sono: cereali (quali riso, mais e frumento duro); ortofrutticole (quali pomodoro, patata, melo ed altri alberi da frutto); leguminose (quali fagiolo, pisello); ornamentali; ecc. A tale scopo ad esempio, il cDNA del gene prescelto è operativamente legato a un promotore opportuno e la cassetta di espressione ottenuta è inserita in un vettore biologico, che a sua volta viene introdotto nelle cellule delle piante che si vogliono trasformare.

Degli esempi promotori opportuni sono descritti ad esempio in Osnato et al. (cfr sopra) in cui viene descritto l'impiego del promotore CaMV35S costitutivo per i dicotiledoni.

Altri promotori appropriati sono ad esempio Ubi1, costitutivo per monocotiledoni (Christen and Quail, Transgenic Research, 5, 213-218, 1996) o ancora Cor15 (Baker et al 1994 Plant Mol Biol 24:701-713.).

Al fine di verificare gli effetti dell'espressione dei geni rappresentativi per l'uso secondo l'invenzione sulla protezione delle piante dagli stress, sono state valutate gli effetti fenotipici di tolleranza e, con analisi "microarray", le variazioni del trascrittoma

indotte in piante di Arabidopsis transgeniche dalla sovraespressione del fattore trascrizionale di riso Y11414.

Preparazione di piante transgeniche

Il cDNA del gene Y11414 è stato posto sotto il promotore CaMV35S e a monte del terminatore del gene Nos; la cassetta di espressione così ottenuta è stata inserita nel vettore binario (E. coli - agrobacterio) PGA470. Quest'ultimo è stato introdotto per elettroporazione nel ceppo GV3101 di Agrobacterium tumefaciens, utilizzato poi per trasformare piante di Arabidopsis thaliana (cv Wassilewskija) col metodo del "floral dip".

Risultati

L'analisi informatica dei risultati ottenuti ha indicato l'espressione costitutiva di diversi geni considerati di importanza cruciale nella difesa della pianta da patogeni, in particolari quelli coinvolti nel fenomeno di risposta difensiva noto come SAR (Systemic Acquired Response). In particolare risultano indotti molti, se non tutti, i geni coinvolti nella biosintesi dei fenilpropanoidi e delle lignine (deidrochinase shikimate deidrogenasi, cinnamato-4-idrossilasi, PAL, citocromo P450, EPSP, caffeoyl-CoA metiltransferasi, cinnamoil CoA reduttasi). I composti fenolici dell'acido benzoico (BA) e l'acido salicilico (SA) si accumulano ad alte concentrazioni in seguito ad attacco microbico e sono considerati due mediatori importanti della risposta difensiva. Sia il BA sia il SA, come pure lo stilbene ed altre fitoalexine derivano dal metabolismo dei fenilpropanoidi.

Si è inoltre constatato che risulta indotta anche la trascrizione di geni codificanti per diversi tipi di PR (patogen related) quali alcuni tipi di "hydroxyproline-rich-glycoprotein" (HRGPs, extensine), inibitori di proteinasi, perossidasi, glutatione S-transferasi e "lipid transfer protein".

Infine è risultata indotta la trascrizione sia di geni indotti da etilene, che di almeno un fattore trascrizionale che arriva tali geni. Il ruolo dell'etilene in combinazione con il metil jasmonato nella risposta difensiva della pianta è ben nota.

Le piante transgeniche sono state sottoposte anche a carenza idrica. In particolare sono state osservate le condizioni di piante "wild type" e trasformate mantenute per 10, 20 e 30 giorni senza irrigazione. A dieci e venti giorni le piante "wild type" mostrano gravi segni di clorosi e disidratazione, mentre le trasformate non sembrano danneggiate. A 30 giorni le piante "wild type", sono del tutto secche e morte, mentre le trasformate, pur presentando danni, risultano vitali.

Infine piante trasformate risultano più tolleranti allo stress salino come dimostrato da trattamenti con 300 mM NaCl per una e due settimane, con un aumento di sopravvivenza dal 12 ("wild type") al 29% (trasformate con Y11414) e dal 10 ("wild type") al 27% (trasformate) o con trattamenti di un'ora con 600 mM NaCl, con un aumento della sopravvivenza dal 20 al 60%.

L'invenzione concerne anche un metodo per il trattamento e/o la prevenzione dei danni da stress biotico, da sale, da disidratazione e osmotico nelle piante che comprende inserire nelle dette piante delle cellule ospiti che comprendono una sequenza polinucleotidica scelta tra il gene Y11414, i suoi omologhi funzionali in altre specie e le sequenze polinucleotidiche presentanti una omologia per almeno il 70%, vantaggiosamente l'80 o 90%, con il gene Y11414.

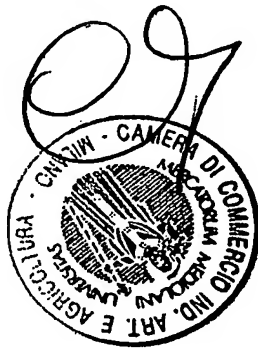
Da quanto precede risulta dunque evidente il ruolo fondamentale esercitato dai geni sopra descritti sulla protezione delle piante dai patogeni e dagli stress abiotici quali elevata salinità, stress osmotico e disidratazione e dunque l'importanza che riveste la presente invenzione, in particolare nel settore agronomico.

RIVENDICAZIONI

1. Uso del gene Y11414 o dei suoi omologhi funzionali in altre specie, per la produzione di piante transgeniche tolleranti gli stress biotici, da sale, da disidratazione e osmotico.
2. Uso secondo la rivendicazione 1 per la prevenzione e/o il trattamento degli stress biotici, da sale, da disidratazione e osmotico nelle piante.
3. Uso secondo le rivendicazioni 1 o 2, in cui detto gene è il gene Y11414, sue varianti funzionali, sue sequenze complementari e suoi prodotti di trascrizione.
4. Uso secondo le rivendicazioni 1 o 2, in cui detto omologo funzionale è una sequenza polinucleotidica che presenta una omologia di almeno il 70% con la regione variabile del gene Y11414.
5. Sequenza polinucleotidica caratterizzata da una omologia di almeno il 70% con la regione variabile del gene Y11414.
6. Polipeptide codificato dal gene Y11414, da un suo omologo funzionale in altre specie o da una sequenza polinucleotidica che presenta una omologia di almeno il 70% con la regione variabile dal gene Y11414.
7. Uso di un polipeptide codificato dal gene Y11414, da un suo omologo funzionale in altre specie o da una sequenza polinucleotidica che presenta una omologia di almeno il 70% con la regione variabile dal gene Y11414, per la prevenzione e/o il trattamento degli stress biotici, stress da sale, da disidratazione e osmotico nelle piante
8. Uso di cassette di espressione e/o i vettori biologici contenenti il gene Y11414, un suo omologo funzionale in altre specie o da una sequenza polinucleotidica che presenta una omologia di almeno il 70% con la regione variabile dal gene Y11414 per la preparazione di piante transgeniche tolleranti gli stress biotici, da sale, da

disidratazione e osmotico.

9. Cassette di espressione comprendenti un promotore operativamente legato a una sequenza polinucleotidica secondo la rivendicazione 5.
10. Vettore biologico comprendente una sequenza polinucleotidica secondo la rivendicazione 5 o una cassetta di espressione secondo la rivendicazione 9.
11. Cellula ospite vegetale trasformata con il vettore biologico secondo la rivendicazione 10.
12. Pianta transgenica comprendente cellule ospiti vegetali secondo la rivendicazione 11.
13. Metodo per il trattamento e/o la prevenzione dei danni da stress biotico, da sale, da disidratazione e osmotico nelle piante, che comprende trasformare le dette piante con cellule ospite che comprendono il gene Y11414.
14. Metodo per il trattamento e/o la prevenzione dei danni da stress da sale, da disidratazione e osmotico nelle piante, che comprende trasformare le dette piante con cellule ospite secondo la rivendicazione 11.
15. Metodo per la preparazione di piante transgeniche tolleranti gli stress biotico, da sale, da disidratazione e osmotico che comprende utilizzare il gene Y11414, un suo omologo funzionale o una sequenza polinucleotidica secondo la rivendicazione 5.



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.